

急性髓细胞白血病基因突变研究现状及展望

徐开林 曹江

221002 江苏徐州医学院附属医院血液科

通信作者:徐开林,Email:lihmd@163.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-419X.2016.01.001

【摘要】 急性髓细胞白血病(AML)是一组高度异质性的克隆性疾病,具有独特的细胞形态学、免疫表型、细胞遗传学及分子遗传学特征。一些重现性基因突变已被证实是 AML 诊断分型、危险分层及评估预后的重要因素,并且一些针对突变基因的特异性靶向药物也逐渐进入临床研究。笔者根据目前 AML 的相关研究进展,对一些与 AML 预后相关的基因突变进行总结,旨在为理解和探索 AML 的发病机制拓宽思路。

【关键词】 白血病,髓样,急性; 突变; 分子靶向治疗

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81470303)

Research of gene mutation in acute myeloid leukemia: development and prospect Xu Kailin, Cao Jiang

Department of Hematology, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, Jiangsu Province, China

Corresponding author: Xu Kailin, Email:lihmd@163.com

【Abstract】 Acute myeloid leukemia (AML) is a range of clonal diseases with high heterogeneity. It characterized by typical morphology, immunology, cytogenetic and molecular genetic. Available evidence supports reproducible gene mutation is critical in AML, especially in diagnostic typing, risk stratification and prognostic evaluation. Moreover, agents targeted mutations also have been applied in clinical research. We review these gene mutations closely related to the prognosis of AML, thereby helping to understand and explore the pathogenesis of AML better.

【Key words】 Leukemia, myeloid, acute; Mutation; Molecular targeted therapy

Fund Program: General Program of National Natural Science Foundation of China (81470303)

急性髓细胞白血病(acute myeloid leukemia, AML)是一组高度异质性的克隆性疾病,具有独特的细胞形态学、免疫表型、细胞遗传学及分子遗传学特征。其中,重现性细胞遗传学异常和基因突变,如核磷蛋白(nucleophosmin,NPM)1,CCAAT 增强子结合蛋白 α (CCAAT-enhancer binding protein alpha, CEBPA)等基因突变,已被世界卫生组织(World Health Organization,WHO)及美国国立综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network,NCCN)拟定为 AML 诊断分型、危险分层及评估预后的重要因素。近年来,随着第二代基因测序技术、单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism,SNP)探针分析及比较基因组学等新技术的发展,在 AML 患者中鉴别出更多的异常基因,这些异常基因可能与 AML 的发病机制及预后有关,现简要介绍如下。

1 预后不良的基因突变

1.1 Fms 样酪氨酸激酶 3 基因突变

Fms 样酪氨酸激酶(Fms-like tyrosine kinase, FLT)3 是 III 型受体酪氨酸激酶家族成员,其由胞外区、跨膜区及胞内区 3 部分构成,仅在造血祖细胞、前体 B 淋巴细胞、前体巨噬细胞膜表面表达。野生型

FLT3 与其配体结合,调节骨髓系、淋巴系祖细胞等增殖、分化及造血发育。Berenstein^[1] 研究结果表明,FLT3 基因突变是 AML 患者中发生率最高的基因突变之一,其可见于 AML 各种亚型。目前已经发现 2 种形式的 FLT3 基因突变,1 种是近膜结构域的第 14 和 15 号外显子的内部串联突变(intenal tandem duplication,ITD);另 1 种是酪氨酸激酶结构域(tyrosine kinase domain,TKD)的第 20 号外显子的点突变,多位于其活化环内,最常见是第 835 位天门冬氨酸(Asp835)残基的突变。上述 2 种突变均可造成 FLT3 的结构性活化,激活下游异常的信号转导,促进血细胞增殖,并抑制其凋亡。上述 2 种突变中以 FLT3-ITD 突变更为常见,且与 AML 的复发率、无病生存(disease free survival,DFS)率及总体生存(overall survival,OS)率高度相关,是 AML 患者预后不良的重要标志^[1]。

1.2 c-KIT 基因突变

C-KIT 是酪氨酸激酶受体蛋白家族的重要成员之一,其作为干细胞因子受体,可以通过一系列信号通路参与造血干细胞增殖、分化的调控。正常情况下,其仅表达于正常造血干/祖细胞、早期髓系细胞及人内皮细胞表面。在其突变情况下,该受体被持续激活,最终导

致配体非依赖性自动磷酸化,从而激活下游信号转导途径,引发体内细胞恶性增殖,导致肿瘤形成。近年,Paschka 等^[2]研究结果显示,25%~30%的核心结合因子(core binding factor,CBF)-AML 患者中存在 c-KIT 基因突变,包括编码激酶区的第 17 号外显子和编码受体膜外区域的第 8 号外显子突变。在成年人 CBF-AML 中,合并 c-KIT 基因突变的患者其复发率较无突变患者高,且预后差;儿童 CBF-AML 的复发率及 OS 率则不受 c-KIT 基因突变的影响。

1.3 混合谱系白血病基因重排

混合谱系白血病(mixed lineage leukemia,MLL)基因定位于染色体 11q23,其编码的蛋白可正向调节早期胚胎发育和造血分化。目前,de Boer 等^[3]研究结果显示,通过染色体易位,MLL 基因能和 60 多种基因形成融合基因,其转录翻译的融合蛋白可提高下游靶基因的转录活性,从而破坏多种基因的正常表达,造成造血干/祖细胞的自我更新和生长能力改变,导致白血病发生。在 AML 中 MLL 基因重排的发生率为 5%~10%,有 MLL 基因重排的 AML 大多恶性程度高,对常规化疗不敏感,患者生存期短,是 AML 预后差的独立因素^[3]。

2 可能为预后良好的基因突变

2.1 核磷蛋白 1 基因突变

NPM1 基因编码 1 种多功能穿梭蛋白,主要定位于核仁区,可在核仁、核质及细胞质之间穿梭,参与核糖体前体运输和合成、中心体的复制、应激反应等,进而调控细胞的周期进程和增殖发育。NPM1 基因突变是目前 AML 中最常见的突变形式,约占所有 AML 的 25%~35%,而在正常核型的 AML 中可占 41%~62%。AML 中的 NPM1 基因突变一般为第 12 号外显子的移码突变,目前已发现约 50 余种变异体。研究发现仅存在 NPM1 基因突变的患者对诱导化疗反应敏感,完全缓解(complete response,CR)率高,复发率低,DFS 率及 OS 率明显增加,并且这些预后指标与化疗方案的选择无关。NPM1⁺/FLT3-ITD⁻是除细胞遗传学、年龄及 FLT3-ITD 外独立的预后因素,是 AML 预后良好的判断指标^[4]。

2.2 CCAAT 增强子结合蛋白 α 基因突变

CEBPA 基因定位于染色体 19q13.1,cDNA 全长为 2 385 bp.CEBPA 基因编码的 CEBPA 是维持造血系统粒系分化的重要转录因子,在调节粒细胞增殖与分化的平衡中起关键作用。10%~20%的 AML 患者存在 CEBPA 基因突变,多数同时具有 N 端和 C 端双侧突变,且分布在不同的等位基因上。研究结果显示,CEBPA 基因突变患者预后良好,其 CR 率、DFS 率及 OS 率均明显优于无突变者。且 CEBPA 基因双侧突变患者才具有良好预后,而单侧突变与无突变患者预

后大致相当^[5]。

3 其他的基因突变

3.1 异柠檬酸脱氢酶基因突变

异柠檬酸脱氢酶(isocitrate dehydrogenase,IDH)是三羧酸循环的限速酶,利用烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide,NAD)或烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate,NADP)催化异柠檬酸氧化脱羧基生成 α -酮戊二酸,并相应生成还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(reduced nicotinamide adenine dinucleotide, NADH)或还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)。IDH 基因突变在 AML 患者中总发生率约为 10%,在正常核型 AML 中发生率约为 30%,其突变热点主要为 IDH1 第 132 位精氨酸残基(R132)、IDH2 第 140 位精氨酸残基(R140)及 IDH2 第 172 位精氨酸残基(R172)。IDH 基因突变造成异柠檬酸氧化脱羧基生成 α -酮戊二酸的能力下降,依赖 α -酮戊二酸酶的活性降低,使其底物低氧诱导因子 1 α 积聚上调,导致生长因子如血管内皮生长因子的高表达,影响肿瘤血管新生、转移及耐药等。同时,IDH 基因突变还可获得新的酶活性,可催化 α -酮戊二酸生成 2 羟基戊二酸,造成白血病细胞中 2 羟基戊二酸的蓄积,直接抑制甲基胞嘧啶双加氧酶(methyl cytosine dioxygenase,TET)2 依赖 α -酮戊二酸催化 5-甲基胞嘧啶生成 5-羟甲基胞嘧啶的能力,故推测这是导致白血病细胞具有过度甲基化表型的原因之一^[6-7]。目前,IDH 基因突变在评估 AML 预后方面尚无统一结论,有研究结果显示,在无 NPM1 突变的 AML 或在正常核型 AML 患者中,IDH 基因突变则对患者整体生存时间产生不良影响^[6]。

3.2 甲基胞嘧啶双加氧酶 2 基因突变

TET2 是 TET 蛋白家族成员之一,其编码基因位于染色体 4q24,可通过直接催化 DNA 去甲基化和间接催化组蛋白糖基化的双表观遗传修饰调控基因转录,进而参与造血调控。研究结果显示,TET2 基因在多种血液肿瘤中存在突变,在 AML 中的突变率为 7%~23%。TET2 基因的突变形式包括缺失突变、无义突变、移码突变及错义突变,多为失功能性突变,在血液肿瘤中常与 IDH 基因突变互相排斥^[7]。目前,TET2 基因突变是否与 AML 患者预后相关尚无共识性结论,部分研究显示正常核型的 AML 患者中,若存在 TET2 基因突变则提示预后不良^[7]。

3.3 DNA 甲基转移酶 3A 基因突变

DNA 甲基转移酶(DNA methyltransferase,DNMT)3A 是甲基转移酶家族成员之一,其编码基因位于染色体 2p23。该蛋白可对 CpG 二核苷酸中的胞

嘧啶进行甲基化。研究发现 DNMT3A 基因突变发生率在 AML 患者中高达 22.1%，常见于法国、美国、英国(French-American-British, FAB)合作组分型的 M4 亚型，即急性粒-单核细胞白血病(acute myelomonocytic leukemia, AMML)；或 M5 亚型，即急性单核细胞白血病(acute monocytic leukemia, AMoL)。其突变形式以错义突变为主，突变热点为位于第 23 号外显子编码区的第 882 位精氨酸残基(R882)，该突变可降低 DNMT3A 的催化活性及其与 DNA 亲和力，同时突变蛋白产物还可能获得其他功能。存在 DNMT3A 基因突变的 AML 患者生存期缩短，复发风险增加，提示预后不良^[8]。

3.4 性梳样蛋白 1 基因突变

性梳样(additional sex combs-like, ASXL)蛋白 1 属于 ASXL 蛋白家族成员，其编码基因位于染色体 20q11。该蛋白是多梳抑制性去泛素化酶复合物的组分之一，对组蛋白 H2A 第 119 位赖氨酸(H2AK119)进行去泛素化。研究发现在多种髓系肿瘤中存在 ASXL1 基因突变，其中在 AML 中的突变率为 3%~11%，其突变率随 AML 患者年龄的增大而升高，在继发 AML 患者中突变率较原发患者高，并且证实 ASXL1 基因突变与预后不良有关^[9]。

3.5 RUNX1 基因突变

RUNX1 属于 RUNX 蛋白家族成员，其编码基因位于染色体 21q22。该蛋白可促进或抑制调节造血相关基因的表达，调节造血细胞的分化、凋亡与自我更新，是造血过程中关键的调节因子，也是人类急性白血病中多种染色体易位的常见靶位点。目前，研究发现在约 5.6% 的 AML 患者中存在 RUNX1 基因突变，其突变主要集中在第 3、4、8 号外显子上，并且 RUNX1 基因突变的 AML 患者其无事件生存(event-free survival, EFS)率、DFS 率及 OS 率均较 RUNX1 野生型 AML 患者降低，提示预后不良^[10]。

3.6 BCOR 基因突变

BCOR 编码基因位于染色体 Xp11.4，该蛋白可作为辅阻遏物参与抑制多种转录因子的活性，在胚胎早期发育、间充质干细胞功能和造血调控中均起重要作用。研究结果显示，在 3.8% 正常核型的 AML 患者中存在 BCOR 基因突变，并且该群患者常缺少 MLL、CEBPA、NPM1、FLT3-ITD 基因突变。回顾性研究证实合并 BCOR 基因突变的正常核型 AML 患者的预后相对较差^[11]。

4 展望

随着第二代基因测序技术的迅猛发展，在 AML 患者中越来越多的基因突变被逐一发现。虽然目前多数突变基因的功能、诊断及预后价值尚不清楚，但现有研究已证实部分基因的突变在 AML 的诊断及治疗预

后等方面起着重要的作用，并且一些针对突变基因的特异性靶向药物也逐渐进入临床前研究。利用这些新的发现，结合细胞遗传学、分子生物学等证据，通过大样本病例分析有望制定出更详细的 AML 诊断及治疗分层策略，这将为 AML 患者带来新的希望。

利益冲突 无

5 参考文献

- [1] Berenstein R. Class III receptor tyrosine kinases in acute leukemia- biological functions and modern laboratory analysis [J]. Biomark Insights, 2015, 10 (Suppl 3): 1-14. DOI: 10.4137/BMI.S22433.
- [2] Paschka P, Marcucci G, Ruppert AS, et al. Adverse prognostic significance of KIT mutations in adult acute myeloid leukemia with inv(16) and t(8;21): a Cancer and Leukemia Group B Study [J]. J Clin Oncol, 2006, 24 (24): 3904-3911. DOI: 10.1200/JCO.2006.06.9500.
- [3] de Boer J, Walf-Vorderwülbecke V, Williams O. In focus: MLL-rearranged leukemia [J]. Leukemia, 2013, 27 (6): 1224-1228. DOI: 10.1038/leu.2013.78.
- [4] Thiede C, Koch S, Creutzig E, et al. Prevalence and prognostic impact of NPM1 mutations in 1485 adult patients with acute myeloid leukemia (AML) [J]. Blood, 2006, 107 (10): 4011-4020. DOI: 10.1182/blood-2005-08-3167.
- [5] Pabst T, Eyholzer M, Fos J, et al. Heterogeneity within AML with CEBPA mutations; only CEBPA double mutations, but not single CEBPA mutations are associated with favourable prognosis [J]. Br J Cancer, 2009, 100 (8): 1343-1346. DOI: 10.1038/sj.bjc.6604977.
- [6] Abbas S, Lugthart S, Kavelaars FG, et al. Acquired mutations in the genes encoding IDH1 and IDH2 both are recurrent aberrations in acute myeloid leukemia: prevalence and prognostic value [J]. Blood, 2010, 116 (12): 2122-2126. DOI: 10.1182/blood-2009-11-250878.
- [7] 马秋玲, 阴秀峰, 金洁. IDH 基因突变在急性髓细胞系白血病中的研究新进展 [J]. 国际输血及血液学杂志, 2014, 37 (1): 41-44. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-419X.2014.01.013. Ma QL, Yin XF, Jin J. Advances of studies on IDH gene mutations in acute myeloid leukemia [J]. Int J Blood Transfus Hematol, 2014, 37 (1): 41-44. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-419X.2014.01.013.
- [8] Chou WC, Chou SC, Liu CY, et al. TET2 mutation is an unfavorable prognostic factor in acute myeloid leukemia patients with intermediate-risk cytogenetics [J]. Blood, 2011, 118 (14): 3803-3810. DOI: 10.1182/blood-2011-02-339747.
- [9] Yang L, Rau R, Goodell MA. DNMT3A in haematological malignancies [J]. Nat Rev Cancer, 2015, 15 (3): 152-165. DOI: 10.1038/nrc3895.
- [10] Schnittger S, Eder C, Jeromin S, et al. ASXL1 exon 12 mutations are frequent in AML with intermediate risk karyotype and are independently associated with an adverse outcome [J]. Leukemia, 2013, 27 (1): 82-91. DOI: 10.1038/leu.2012.262.
- [11] Greif PA, Konstantin NP, Metzeler KH, et al. RUNX1 mutations in cytogenetically normal acute myeloid leukemia are associated with a poor prognosis and up-regulation of lymphoid genes [J]. Hematologica, 2012, 97 (12): 1909-1915. DOI: 10.3324/haematol.2012.064667.
- [12] Grossmann V, Tiacchi E, Holmes AB, et al. Whole-exome sequencing identifies somatic mutations of BCOR in acute myeloid leukemia with normal karyotype [J]. Blood, 2011, 118 (23): 6153-6163. DOI: 10.1182/blood-2011-07-365320.

(收稿日期: 2015-12-04 修回日期: 2016-01-13)